

Stężenie leptyny w surowicy chorych na biegunkę infekcyjną

The level of leptin in blood among patients with infective diarrhoea

Grażyna Biesiada¹, Jacek Czepiel¹, Agata Ptak-Belowska², Aneta Targosz², Tomasz Brzozowski², Tomasz Mach¹

¹Klinika Chorób Zakaźnych Katedry Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

²Katedra Fizjologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Przegląd Gastroenterologiczny 2010; 5 (3): 168–172

DOI: 10.5114/pg.2010.14143

Słowa kluczowe: biegunka infekcyjna, leptyna, białko C-reaktywne.

Key words: infective diarrhoea, leptin, C-reactive protein.

Adres do korespondencji: dr n. med. Grażyna Biesiada, Klinika Chorób Zakaźnych Katedry Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Śniadeckich 5, 31-501 Kraków, tel. +48 12 424 73 49, faks +48 12 424 73 80, e-mail: gbiesiada@op.pl

Streszczenie

Wprowadzenie: Biegunka infekcyjna jest zespołem chorobowym, który charakteryzuje się wystąpieniem licznych stolców lub stolców ze zwiększoną ilością wody powstających na skutek zadziałania czynnika zakaźnego. Leptynę zalicza się do rodziny helikalnych cytokin klasy I, a jej wydzielanie zależy od wielkości tkanki tłuszczowej. Wzrost ilości zgromadzonej tkanki tłuszczowej powoduje nasilenie wydzielania tego związku hamującego ośrodek sytości. Stężenie leptyny zwiększa się po posiłku i zmniejsza kilka godzin po nim. Jej wytwarzanie nasilają niektóre cytokiny, a sama wpływa na komórki układu immunologicznego.

Cel: Porównanie stężenia leptyny we krwi chorych na biegunkę infekcyjną na początku objawów oraz po wyleczeniu, 8 tyg. później, a także ocena korelacji stężenia tej cytokiny ze wskaźnikami biochemicznymi krwi chorych.

Materiał i metody: Badania prospektywne przeprowadzono w grupie 30 chorych. Oznaczano im morfologię krwi obwodowej, stężenie białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) i leptyny w surowicy metodą ELISA.

Wyniki: Stwierdzono różnice w stężeniach leptyny – większe jej stężenie w okresie biegunki infekcyjnej niż w okresie zdrowia, ale różnice te nie były istotne statystycznie. U chorych z biegunką infekcyjną odnotowano istotną zależność między liczbą płytek krwi, leukocytów i stężeniem CRP a stężeniem leptyny.

Wnioski: Wyniki te wskazują na korelację, jaka istnieje między aktywnością stanu zapalnego, wyrażoną poziomem wskaźników zapalnych, i stężeniem cytokin prozapalnych a stężeniem leptyny u chorych z biegunką infekcyjną.

Abstract

Introduction: Infective diarrhoea is a disease which is characterized by the presence of frequent, watery stools caused by an infective agent. Leptin belongs to the family of class I helical cytokines. It is secreted mainly by adipocytes. Increased amounts of adipose tissue result in increased secretion of leptin, which inhibits the satiety centres. The level of leptin increases after a meal and decreases a few hours later. Leptin production is stimulated by some cytokines and also leptin acts on immunological system cells.

Aim: To compare the level of leptin in the blood of patients with infective diarrhoea at the beginning of symptoms and after recovery, 8 weeks later and to correlate the level of leptin in the blood with biochemical parameters measured in the blood.

Material and methods: A prospective study was done with 30 patients. Blood morphology, C-reactive protein and the level of leptin in the blood using the ELISA method were performed in all patients at the beginning of symptoms and after recovery, 8 weeks later.

Results: We observed differences between the leptin level in the blood at the beginning of the infective diarrhoea and after recovery, 8 weeks later, but they were not statistically significant. We observed among patients with infective diarrhoea at the beginning of symptoms positive correlations between leptin and white blood cells, CRP and thrombocytes in blood.

Conclusions: These results suggest a correlation between the activity of inflammation measured by blood inflammatory markers and the level of leptin among patients with infective diarrhoea.

Wprowadzenie

Biegunka infekcyjna jest zespołem chorobowym, który charakteryzuje się wystąpieniem licznych stolców lub stolców ze zwiększoną ilością wody powstających na skutek zadziałania czynnika zakaźnego [1, 2]. Według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia (*World Health Organization* – WHO) o tego rodzaju biegunce mówi się, gdy liczba stolców na dzień wynosi 3 lub więcej.

Czynnikami etiologicznymi mogą być zarówno bakterie, wirusy, jak i pasożyty. Wśród bakterii najczęstszymi czynnikami etiologicznymi są: *Salmonella* sp., *Escherichia coli* (*E. coli*), *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Clostridium difficile* (*C. difficile*), *Shigella* i *Yersinia* [1]. Do wirusów wywołujących biegunkę infekcyjną zalicza się: rotawirusy (najczęściej u dzieci), kaliciwirusy, adenowirusy i astrowirusy [3]. Wśród najczęstszych patogenów pasożytniczych należy wymienić pierwotniaki: *Giardia lamblia* (zwłaszcza w Europie), *Cryptosporidium parvum*, *Microsporidium* i *Entamoeba histolytica* [1].

Leptyna jest białkiem o masie cząsteczkowej 16 kDa, składającym się ze 167 aminokwasów. Ludzki jej gen został zlokalizowany w 1995 r. na chromosomie 7q31.3. Wydzielana jest głównie przez adipocyty, ale także przez wiele innych komórek, takich jak: komórki nabłonka przewodu pokarmowego, serca i łożyska [4, 5]. Leptynę zalicza się do rodziny helikalnych cytokin klasy I. Hormon ten jest degradowany głównie przez nerki, w mniejszym stopniu przez inne narządy, np. wątrobę [6, 7].

Oddziaływanie leptyny na komórki odbywa się poprzez receptor OB-R, występujący w wielu narządach i tkankach, takich jak: ośrodkowy układ nerwowy, nerki, płuca, przewód pokarmowy, serce, wątroba, trzustka, jajniki, jądra, nadnercza, węzły chłonne, mięśnie szkieletowe, tkanka tłuszczowa i łożysko [8].

Wydzielanie leptyny zależy od wielkości tkanki tłuszczowej. Wzrost ilości zgromadzonej tkanki tłuszczowej powoduje nasilenie wydzielania tej cytokiny hamującej ośrodek sytości [5]. Stwierdzono wyraźną zależność między ekspresją genu z następczym stężeniem leptyny we krwi a przyjmowaniem posiłków. Jej stężenie zwiększa się po posiłku i zaczyna się zmniejszać kilka godzin po nim [9].

Wzrost wytwarzania leptyny nasilają niektóre cytokiny [np. czynnik martwicy nowotworów α (*tumour necrosis factor* α – TNF- α , interleukina 1 (IL-1)]. Leptyna wpływa na komórki układu immunologicznego, aktywuje makrofagi, monocyty, indukuje proces fagocytozy, ekspresji cytokin, zwłaszcza IL-6 i IL-12 oraz TNF- α . Leptyna indukuje ponadto proliferację limfocytów T, hamuje natomiast proliferację limfocytów pamięci immunologicznej [10, 11].

Liczne doniesienia piśmiennictwa omawiają udział leptyny w rozwoju stanu zapalnego. W przedstawionej pracy autorzy podjęli próbę analizy zachowania się stę-

żeń leptyny w toku stanu zapalnego w przebiegu biegunki infekcyjnej i w okresie wyleczenia z niej.

Cel

Porównanie stężenia leptyny we krwi chorych na biegunkę infekcyjną na początku objawów oraz po wyleczeniu, 8 tyg. później, a także ocena korelacji stężenia tej cytokiny z wybranymi wskaźnikami biochemicznymi krwi chorych. Badania kontrolne przeprowadzono w okresie pełnego zdrowia, po wyrównaniu niedoborów pokarmowych.

Materiał i metody

Badania prospektywne przeprowadzono u 30 chorych (15 kobiet i 15 mężczyzn), w wieku 18–64 lat, z biegunką infekcyjną. Pacjenci byli hospitalizowani na Oddziale Klinicznym Kliniki Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w latach 2005–2008 (kierownik Oddziału Klinicznego: prof. dr hab. n. med. Tomasz Mach). Chorych oceniano na początku hospitalizacji, w pierwszych 48 godz. od wystąpienia objawów i powtórnie po 8 tyg. od wyleczenia.

Kryteriami wykluczającymi z badanej grupy były: choroby endokrynologiczne, zwłaszcza cukrzyca, hiperlipidemia, znaczna otyłość, choroby nowotworowe, immunologiczne, choroba niedokrwienna serca, przewlekła obturacyjna choroba płuc oraz stosowanie leków immunosupresyjnych, hormonalnych i hipolipemizujących.

Rozpoznanie biegunki infekcyjnej ustalono na podstawie wywiadu, danych epidemiologicznych, badania fizykalnego oraz wyników badań analitycznych [1]. Rozpoznanie potwierdzano wynikami badań mikrobiologicznych stolca. Wyleczenie procesu zapalnego w grupie chorych z biegunką infekcyjną oceniano na podstawie obrazu klinicznego: obecności prawidłowych wypróżnień, braku dolegliwości subiektywnych i prawidłowej ciepłoty ciała [1, 3].

W surowicy oznaczono morfologię krwi obwodowej oraz stężenia białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) i leptyny. Próbkę krwi do oznaczenia stężenia leptyny były pobierane rano (7.00–8.00) na czczo, odwirowywane (300 rpm/5 min) i przechowywane w temperaturze -80°C . U wszystkich chorych przeprowadzono badania mikrobiologiczne stolca: bakteriologiczne (hodowla), na obecność toksyn A i B *Clostridium difficile* (metodą ELISA), parazytologiczne (mikroskopowe) i w kierunku wirusa Rota (metodą ELISA).

Wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu Wilcoxona. Za poziom znamiennej istotności różnic przyjęto wartość $p < 0,05$. Wszystkie obliczenia wykonano za pomocą pakietu statystycznego STATISTICA 8 PL (StatSoft, Inc, USA), licencjonowanego dla Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Tabela I. Charakterystyka kliniczna chorych z biegunką infekcyjną**Table I.** Profile of patients with infective diarrhoea

Liczba pacjentów	30 (100%)
Średni wiek chorych [lata], zakres	35, 19–60
Liczba mężczyzn	15 (50%)
Liczba kobiet	15 (50%)
Średni wskaźnik masy ciała [kg/m ²]	22,9
Pozytywne badanie bakteriologiczne stolca:	
zakażenie <i>Salmonella sp.</i>	7 (23,3%)
zakażenie <i>Clostridium difficile</i>	11 (36,7%)
zakażenie rotawirusami	6 (20%)
pozytywne badanie parazytologiczne stolca	0
negatywne badanie mikrobiologiczne stolca	6 (20%)
cechy zapalenia jelita grubego w endoskopii	18 (60%)
bez zmian zapalnych w jelicie grubym w endoskopii	12 (40%)

Wyniki

W zakresie wartości leukocytozy stwierdzono różnicę między grupą chorych z biegunką infekcyjną (tab. I) a pacjentami wyleczonymi z tego zachorowania. Osoby z biegunką infekcyjną miały istotnie wyższą ($p = 0,02$) leukocytozę ($7,84 \pm 3,28 \times 10^3/\text{dl}$) niż chorzy, którzy przebyli tę infekcję ($6,56 \pm 1,57 \times 10^3/\text{dl}$). Nie odnotowano różnicy między badanymi grupami w zakresie liczby erytrocytów i stężenia hemoglobiny. Stężenie CRP w surowicy w grupie chorych z biegunką infekcyjną (grupa I) było większe (32,1 mg/l) niż w grupie osób wyleczonych z niej (7,6 mg/l), a różnica ta była istotna ($p < 0,01$).

Zaobserwowano różnice w stężeniach leptyny – większe jej stężenie w okresie biegunki infekcyjnej (grupa I – 9650,39 pg/ml) niż w okresie zdrowia (grupa II – 6890,82 pg/ml), ale różnice te nie były statystycznie istotne (tab. II).

W grupie chorych z biegunką infekcyjną stwierdzono dodatnią korelację między liczbą leukocytów, płytek krwi i stężeniem CRP a stężeniem leptyny (tab. III).

Tabela II. Stężenie leptyny w surowicy w badanych grupach**Table II.** Level of leptin in blood in analysed groups

Grupa	N	Leptyna [pg/ml]				Wartość p
		średnia	odchylenie standardowe	wartość minimalna	wartość maksymalna	
I – biegunka infekcyjna	30	9650,39	12287,15	310,00	97600,00	0,11
II – biegunka infekcyjna – wyleczeni	30	6890,82	5951,59	390,00	32325,00	

różnice nieistotne statystycznie: grupa I vs II, różnica istotne ($p < 0,05$)

Omówienie

Odkrycie leptyny oraz poznanie jej roli w regulacji apetytu i masy ciała spowodowało zainteresowanie badaczy problemem potencjalnego udziału tej cytokiny w redukcji masy ciała, który obserwuje się w procesach zapalnych. Cytokiny nasilają wytwarzanie leptyny, leptyna wpływa natomiast aktywując na komórki układu immunologicznego [10]. Wśród wielu badań dotyczących tego zagadnienia jednym z ocenianych modeli był stan zapalny jelita grubego.

Siegmund i wsp. badali rolę leptyny jako mediatora między układem immunologicznym a endokrynnym [12]. Badanie przeprowadzono na myszach z deficytem leptyny (ob/ob) oraz na myszach dzikich, wywołując ostry i przewlekły stan zapalny przy użyciu kwasu trinitrobenzenosulfonowego (*trinitrobenzenesulfonic acid* – TNBS) i siarczuanu sodowego dekstranu (*dextran sulfate sodium* – DSS). Oceniano ciężkość zapalenia jelita, analizując konsystencję stolca, obecność w nim krwi, ocenę histopatologiczną biopsji jelita i stężenie cytokin. U myszy z deficytem leptyny ob/ob autorzy wykazali 72-procentową redukcję ciężkości zapalenia jelita i mniejsze stężenie cytokin niż w grupie myszy dzikich. Następnie podawano leptynę dootrzewnowo obu grupom myszy i ponownie oceniano nasilenie stanu zapalnego i stężenie cytokin. Podanie leptyny spowodowało w tym eksperymencie wystąpienie porównywalnej reakcji zapalnej w obu grupach myszy, co wskazuje, że brak tego związku jest czynnikiem warunkującym oporność na chorobę [12].

W innych badaniach doświadczalnych Sitaraman i wsp. podawali myszom doodbytniczo po 2 dniach głodzenia rekombinowaną leptynę. Obserwowali u zwierząt biegunkę i redukcję masy ciała. Tę samą procedurę zastosowano w grupie kontrolnej myszy, którym podawano samo podłoże. W badaniu histopatologicznym wykazano, że leptyna indukowała stan zapalny, uszkodzenie błony śluzowej i rozwój ropni krypt. Autorzy stwierdzili, że leptyna w stanie zapalnym błony śluzowej jelita grubego działa jak cytokina prozapalna [13].

Lin J. i wsp. ocenili stężenie leptyny w surowicy i tkance tłuszczowej szczurów przed niedokrwieniem jelit i po niedokrwieniu. Zaobserwowali znaczne zmiany

w tych stężeniach. Wykazali początkową redukcję stężenia leptyny zarówno w tkance, jak i surowicy po 30 min od uszkodzenia jelita w stosunku do badania wyjściowego. Po 60 min od uszkodzenia jelita stężenie leptyny było znamienne większe zarówno w tkance tłuszczowej, jak i surowicy oraz ponownie mniejsze niż wyjściowe stężenia w surowicy i tkance tłuszczowej po dalszych 90 min. Autorzy uważają, że w ostrym uszkodzeniu jelita stężenie leptyny w surowicy i tkance tłuszczowej zmienia się w czasie [14].

Analiza stężeń tej cytokiny w surowicy lub tkance jelita grubego w biegunce infekcyjnej nie były przedmiotem wielu badań. Jenkins i wsp. ocenili u świni w toku biegunki infekcyjnej wywołanej *Salmonella enterica* stężenie leptyny w surowicy. Nie stwierdzili różnicy w stężeniach leptyny u świń zakażonych tą bakterią a grupą kontrolną [15]. Mykoniatis i wsp. ocenili stężenia leptyny w trzech grupach myszy: myszy dzikich, myszy ob/ob z deficytem leptyny i myszy db/db odpornej na leptynę, którym podawano toksynę A *Clostridium difficile*. Autorzy wykazali, że stężenie tego związku w grupie myszy dzikich było większe niż w grupie kontrolnej, czemu towarzyszył wzrost ekspresji mRNA dla leptyny w błonie śluzowej jelita. Myszy ob/ob i db/db były odporne na działanie toksyny i nie miały objawów jelitowych, natomiast u myszy ob/ob po podaniu leptyny wystąpiły objawy chorobowe [16].

W niniejszych badaniach stwierdzono różnice w stężeniach leptyny – większe jej stężenie w okresie biegunki infekcyjnej niż w okresie zdrowia, ale różnice te nie były statystycznie istotne. Nie ma w piśmiennictwie doniesień na temat analizy stężeń tej cytokiny w biegunce infekcyjnej u ludzi. Autorzy przedstawiają to zagadnienie na modelu zwierzęcym. Wymaga ono dalszych badań w większej grupie chorych, oceny aktywności mRNA leptyny i stężenia leptyny w błonie śluzowej jelita grubego.

U chorych z biegunką infekcyjną stwierdzono istotną zależność między liczbą płytek krwi, leukocytów i stężeniem CRP a stężeniem leptyny (tab. III). Wyniki te potwierdzają korelację między aktywnością stanu zapalnego, wyrażoną poziomem wskaźników zapalnych, i stężeniem cytokin prozapalnych a stężeniem leptyny u chorych z biegunką infekcyjną.

Wnioski

1. Stwierdzono różnice w stężeniach leptyny – większe jej stężenie w okresie biegunki infekcyjnej niż w okresie zdrowia, ale różnice te nie były istotne statystycznie.
2. Istnieje korelacja między liczbą płytek krwi, leukocytów i stężeniem CRP a stężeniem leptyny.
3. Autorzy uważają, że leptyna bierze udział w rozwoju stanu zapalnego w biegunce infekcyjnej, o czym

Tabela III. Korelacje między parametrami krwi, CRP a stężeniem leptyny w grupie chorych z biegunką infekcyjną

Table III. Correlation between blood parameters, CRP and leptin in blood among patients with infective diarrhoea

Parametr	Leptyna	
leukocyty	współczynnik korelacji <i>r</i>	0,36
	<i>N</i>	30
	wartość <i>p</i>	0,00
erytrocyty	współczynnik korelacji <i>r</i>	-0,22
	<i>N</i>	30
	wartość <i>p</i>	0,07
hemoglobina	współczynnik korelacji <i>r</i>	-0,14
	<i>N</i>	30
	wartość <i>p</i>	0,26
trombocyty	współczynnik korelacji <i>r</i>	0,27
	<i>N</i>	30
	wartość <i>p</i>	0,02
CRP	współczynnik korelacji <i>r</i>	0,86
	<i>N</i>	30
	wartość <i>p</i>	0,00

świadczą jej korelacje ze wskaźnikami stanu zapalnego, jednak zmiany jej stężeń w surowicy wymagają dalszych badań i oceny stężeń w błonie śluzowej jelita grubego.

Nie zgłoszono sprzeczności interesów. Praca finansowana w ramach grantu KBN K/PBW/000068.

Piśmiennictwo

1. Mach T, Bartnik W. Choroby infekcyjne i pasożytnicze przewodu pokarmowego. W: Choroby wewnętrzne. Szczeklik A. (red.). Medycyna Praktyczna, Kraków 2005; 839-43.
2. Martirosian G. Zakażenie wywołane przez *Clostridium difficile*, rzekomobłoniaste poantybiotykowe zapalenie jelit. W: Choroby zakaźne i pasożytnicze. Cianciara J, Juszczak J (red.). Wydawnictwo Czelej, Lublin 2007; 646-53.
3. Simon K, Serafinska S. Zapalenie jelita cienkiego i grubego. W: Choroby zakaźne i pasożytnicze. Cianciara J, Juszczak J (red.). Wydawnictwo Czelej, Lublin 2007; 316-9.
4. Bełtowski J, Marciniak A, Wójcicka G. Leptin decreases renal medullary Na(+), K(+)-ATP-ase activity through phosphatidylinositol 3-kinase dependent mechanism. J Physiol Pharmacol 2004; 55: 391-407.
5. Kulik-Rechberger B. Leptyna – sygnał metaboliczny z tkanki tłuszczowej. Przegl Lek 2003; 60: 35-9.
6. Krysiak R, Okopień B, Herman ZS. Tkanka tłuszczowa – nowy narząd wydzielania wewnętrznego. Przegl Lek 2005; 62: 919-23.
7. Nogalska A, Świerczyński J. Leptyna – hormon o wielu funkcjach. Post Bioch 2001; 47: 200-11.

8. Czerwińska E, Marcinowska-Suchowierska E. Otyłość. Rola ostatnio odkrytych hormonów w homeostazie energetycznej ustroju. *Pol Arch Med Wewn* 2004; 112: 865-72.
9. Baile CA, Della-Fera MA, Martin RJ. Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Ann Rev Nutr* 2000; 20: 105-27.
10. Shi Y, Yan GT, Lin J. Intestinal ischemia – reperfusion injury made leptin decreased. *Regul Pept* 2006; 133: 27-31.
11. Janik JE, Curti BD, Considine RV, et al. Interleukin 1 alpha increases serum leptin concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3084-6.
12. Siegmund B, Lehr HA, Fantuzzi G. Leptin: a pivotal mediator of intestinal inflammation in mice. *Gastroenterology* 2002; 122: 2011-25.
13. Sitaraman S, Liu X, Charrier L. Colonic leptin: source of a novel pro-inflammatory cytokine involved in inflammatory bowel disease. *FASEB J* 2004; 18: 696-8.
14. Lin J, Yan GT, Hao XH, et al. Effect of intestinal ischemia-reperfusion injury on protein levels of leptin and orexin-A in peripheral blood and central secretory tissues. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1000-4.
15. Jenkins NL, Turner JL, Dritz SS, et al. Changes in circulating insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding proteins, and leptin in weaned pigs infected with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Domest Anim Endocrinol* 2004; 26: 49-60.
16. Mykoniatis A, Anton PM, Wlk M, et al. Leptin mediates *Clostridium difficile* toxin-A-induced enteritis in mice. *Gastroenterology* 2003; 124: 683-91.